

529, 457

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
22. April 2004 (22.04.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/034411 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: H01F 1/00, 1/44

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2002/003862

(22) Internationales Anmeldedatum:
9. Oktober 2002 (09.10.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): FERROPHARM GMBH FORSCHUNGSLABOR
[DE/DE]; Potsdamer Str. 18 a, 14513 Teltow (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): PILGRIMM, Herbert
[DE/DE]; Sophie-Charlotte-Strasse 27 a, 14169 Berlin
(DE).

(74) Anwalt: WALTER, Wolf-Jürgen; c/o Felke & Walter,
Normannenstr. 1-2, 10367 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,
SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: STABILIZED SUPERPARAMAGNETIC PARTICLES

(54) Bezeichnung: STABILISIERTE SUPERPARAMAGNETISCHE TEILCHEN

(57) Abstract: The invention relates to stabilized superparamagnetic particles which consist of superparamagnetic single domain particles and aggregations of superparamagnetic particles which are stabilized with aliphatic dicarboxylic or polycarboxylic acids and which contain charged ions of chemical elements on the surface of the small superparamagnetic single-domain particles and, optionally, an additional tissue binding substance or pharmacologically effective substance. The superparamagnetic particles consist of a mixture of small superparamagnetic single domain particles have a particle size ranging from 3 to 5 nanometers and stable, degradable aggregations of small superparamagnetic particles having a particle size of 10-1000 nanometers, and are made of iron hydroxide, iron oxide hydrate, iron oxide, iron mixed oxide or iron. The novel particles can be used as bacteriostatics and radio pharmaceuticals harming tumors, in order to prevent restenosis, in order to combat inflammatory diseases, for the functional control of organs, for magnetic drug targeting, as MR contrasting agents, as magnetic ion exchangers and magnetic adsorbents for separation methods, in the production of extremely small metal particles, as magnetic particles for in vitro diagnosis, optionally in conjunction with magnetic fields.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft stabilisierte superparamagnetische Teilchen, die aus superparamagnetischen Eindomänenteilchen und Aggregaten von superparamagnetischen Eindomänenteilchen bestehen, die mit aliphatischen Di- oder Polycarbonsäuren stabilisiert sind, und die einen Gehalt an geladenen Ionen chemischer Elemente auf der Oberfläche der kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen enthalten und gegebenenfalls einen Gehalt an zusätzlicher gewebespezifischer Bindungssubstanz oder pharmakologisch wirksamer Substanz aufweisen. Die superparamagnetischen Teilchen setzen sich aus einem Gemisch von kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen mit einer Teilchengröße im Bereich zwischen 3 und 50 Nanometer und stabilen, abbaubaren Aggregate aus kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen mit einer Teilchengröße im Bereich zwischen 10 und 1000 Nanometer zusammen und bestehen aus Eisenhydroxid, Eisenoxidhydrat, Eisenoxid-, Eisenmischoxid- oder Eisen. Die neuen Teilchen können als Bakteriostaticum, Radiopharmakon, zur Tumorschädigung, zur Verhinderung von Restenosen, zur Bekämpfung von Entzündungskrankheiten, zur Funktionskontrolle von Organen, zum magnetischen drug targeting, als MR-Kontrastmittel, als magnetische Ionenaustauscher und magnetische Adsorbentien für Separationsverfahren, zur Herstellung von extrem kleinen Metallteilchen, als Magnetteilchen für die in vitro Diagnostik, gegebenenfalls unter Einwirkung von Magnetfeldern verwendet werden.

BEST AVAILABLE COPY

WO 2004/034411 A1

Stabilisierte superparamagnetische Teilchen

Die Erfindung betrifft superparamagnetische Teilchen, die aus superparamagnetischen
15 Eindomänenteilchen und Aggregaten von superparamagnetischen Eindomänenteilchen aus
Eisenoxiden, Eisenmischoxiden oder Eisen bestehen, die auf ihrer Oberfläche stabilisiert sind
und die in der Medizin oder medizinischen Diagnostik eingesetzt werden können.

In der EP 0772776 B1 werden superparamagnetische Teilchen beschrieben, die aus
20 superparamagnetischen Eindomänenteilchen und Aggregaten von superparamagnetischen
Eindomänenteilchen bestehen und die auf ihrer Oberfläche organische Substanzen
gebunden haben, die gegebenenfalls weitere Bindungsstellen zur Kopplung von gewebe-
spezifischen Bindungssubstanzen, diagnostischen oder pharmakologisch wirksamen
Substanzen besitzen. Die superparamagnetische Teilchen setzen sich aus einem Gemisch
25 von kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen mit einer Teilchengröße im Bereich
zwischen 3 und 50 Nanometer und stabilen, abbaubaren Aggregate aus kleinen super-
paramagnetischen Eindomänenteilchen mit einer Teilchengröße im Bereich zwischen 10 und
1000 Nanometer zusammen und bestehen aus Eisenhydroxid, Eisenoxidhydrat, Eisenoxid-,
Eisenmischoxid- oder Eisen, die auf ihrer Oberfläche mono- und/oder polyhydroxyl-
30 gruppenhaltige aromatische Substanzen, Polyglycerine, aminosäurehaltige Substanzen,
silikatgruppenhaltige Substanzen der Orthokieselsäure und deren Kondensationsprodukte
und phosphatgruppenhaltigen Substanzen der Ortho- oder Metaphosphorsäure und deren
Kondensationsprodukte gebunden tragen, die weitere Bindungsstellen aufweisen können.

35 In der EP 0888545 B1 werden superparamagnetische Eindomänenteilchen mit vergrößerter
R1-Relaxivität und mit Oberflächen-Stabilisatorsubstanzen beschrieben, deren Teilchen aus
Eisenhydroxid, Eisenoxidhydrat, Eisenoxid, Eisenmischoxid oder Eisen bestehen, eine Teil-

chengröße im Bereich zwischen 1 und 10 Nanometer, mit einem mittleren Teilchendurchmesser d_{50} von 2 bis 4 Nanometer, besitzen und eine vergrößerte R_1 -Relaxivität im Bereich von 2 bis 50 und ein Verhältnis der Relaxivitäten R_2/R_1 kleiner 5 haben. Auf ihrer Oberfläche sind niedermolekulare Stabilisatorsubstanzen, wie Citronensäure gebunden, die eine Aggregation und Sedimentation im Schwerfeld oder in einem Magnetfeld verhindern.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, den Bereich der Substanzen, die an der Oberfläche der Eindomänenteilchen gebunden sein können, zu erweitern, um die physikalisch, chemischen und physiologischen Eigenschaften der entstehenden Magnetteilchen den jeweiligen Anwendungsgebieten optimal anpassen zu können, wobei diese Substanzen stabil und leicht herstellbar sein sollen.

Die in der EP 0772776 B1 beschriebenen superparamagnetische Teilchen, die aus superparamagnetischen Eindomänenteilchen die auf ihrer Oberfläche organische Substanzen gebunden haben, lassen sich auch mit den in der EP 0888545 B1 beschriebenen niedermolekularen aliphatischen Di- und Polycarbonsäuren, wie Äpfelsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Asparaginsäure, gegen Sedimentation im Schwerfeld der Erde oder einem Magnetfeld stabilisieren. Auch die in der EP 0772776 B1 beschriebenen Aggregate von superparamagnetischen Eindomänenteilchen lassen sich ebenfalls gegen eine Sedimentation im Schwerfeld der Erde, z.B. durch die in der EP 0888545 B1 beschriebene niedermolekulare Citronensäure stabilisieren.

Es wurde gefunden, dass stabilisierte superparamagnetische Teilchen, bestehend aus superparamagnetischen Eindomänenteilchen aus Eisenhydroxid, Eisenoxidhydrat, Eisenoxid-, Eisenmischoxid- oder Eisen, die eine Teilchengröße im Bereich von 2 und 50 Nanometer haben, oder Aggregaten davon, die eine Teilchengröße im Bereich von 10 bis 1000 Nanometer haben, oder Gemischen davon, die jeweils stabilisiert sind auf ihrer Oberfläche durch aliphatische Di- oder Polycarbonsäuren oder Derivate davon, auf ihrer Oberfläche geladene Ionen gebunden tragen können. Die Ionen gehen mit der Oberfläche der superparamagnetischen Teilchen sehr stabile Bindungen ein, die die Sedimentationsstabilität der superparamagnetischen Eindomänenteilchen und Aggregate in bestimmten Konzentrationsbereichen nicht beeinflussen.

Die Stabilitätseigenschaften der metallionenhaltigen Dispersionen wurden bis zu einem Gehalt an Metallionen von bis zu 10 Mol-% des Eisengehaltes der Magnetteilchen untersucht.

Dabei wurde bei allen untersuchten Kationenarten bis zu einem Metallionengehalt von 5 Mol-% des Eisengehaltes der Magnetteilchen die Stabilität der Dispersionen nicht verändert. Die mit der Atom-Absorptions-Spektroskopie (AAS) gemessenen Ionenkonzentrationen der zugesetzten Metallionen im Ultrafiltrat der Dispersionen lagen überraschend bei allen Proben unter der jeweiligen Nachweisgrenze der Meßmethode. Erst oberhalb von einem Metallionengehalt von 5 Mol-% des Eisengehaltes der Magnetteilchen verringert sich die Stabilität der Dispersionen in Abhängigkeit von der Elementart und dem Gehalt der zugesetzten Metallionen und die gemessene Ionenkonzentration im Ultrafiltrat der Dispersionen lag im Meßbereich der AAS.

Bevorzugte Ionen geladener chemischer Elemente sind positiv geladene Metallionen, die aus der Gruppe ausgewählt sind, die aus Metallionen der chemischen Elemente Kupfer, Silber, Gold, Eisen, Nickel, Kobalt, Gallium, Thallium, Bismut, Palladium, Rhenium, Rhodium, Ruthenium, Platin, Technetium, Indium, Iridium, Osmium, Radium, Selen, Vanadium, Yttrium, Zirkon, seltenen Erden, Gemischen davon und radioaktiven Isotopen dieser Elemente besteht.

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung sind die Metallionen aus der Gruppe der radioaktiven Isotope, bestehend aus ^{52}Fe , ^{67}Ga , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{113}In , ^{188}Rh , ^{192}Ir , ^{198}Au , ^{201}Tl und ^{223}Ra ausgewählt.

Eine bevorzugte Gruppe von positiv geladenen Metallionen sind aus der Gruppe ausgewählt, die aus Metallionen der chemischen Elemente Kupfer, Silber, Gold, Platin, Palladium, Osmium, Rhenium, Rhodium, Ruthenium, Vanadium und Gemischen davon besteht.

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung sind die geladenen Ionen Nichtmetallionen, die über eine Polyethylenimin-Brücke an die Oberfläche der superparamagnetischen Eindomänenteilchen gebunden sind. Vorzugsweise werden die radioaktiven Isotope ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{123}I oder Gemische davon auf diese Weise an die stabilisierten superparamagnetischen Teilchen gebunden.

Neben den geladenen Ionen chemischer Elemente können als weitere vorteilhafte Ausführungsform der Erfindung gegebenenfalls noch gewebespezifische Bindungssubstanzen auf den Oberflächen der superparamagnetischen Teilchen gebunden sein. Diese Substanzen können aus der Gruppe ausgewählt sein, bestehend aus Antigenen, Antikörpern, Ribonucleinsäuren, Desoxyribonucleinsäuren, Ribonucleinsäuresequenzen, Desoxyribonucleinsäuresequenzen, Haptene, Avidin, Streptavidin, Protein A, Protein G,

Endotoxin-bindende Proteine, Lectine, Selectine, Oberflächenproteine von Organellen, Viren, Mikroben, Algen, Pilze;

Neben den geladenen Ionen chemischer Elemente können als weitere vorteilhafte Ausführungsform der Erfindung gegebenenfalls noch pharmakologisch wirksamen Substanzen auf den Oberflächen der superparamagnetischen Teilchen gebunden sein, die aus der Gruppe ausgewählt sind, die Antitumorproteine, Enzyme, Antitumorenzyme, Antibiotika, Pflanzenalkaloide, Alkylierungsreagenzien, Antimetaboliten, Hormone und Hormonantagonisten, Interleukine, Interferone, Wachstumsfaktoren, Tumornekrosefaktoren, Endotoxine, Lymphotoxine, Urokinase, Streptokinase, Plasminogen-Streptokinase-Aktivator-Komplex, Gewebe- Plasminogen- Aktivatoren, Desmodus-Plasminogen-Aktivatoren, Makrophagen-Aktivierungs-Körper, Antisera, Blut- und Zellbestandteile und deren Abbauprodukte und Derivate, Zellwandbestandteile von Organellen, Viren, Mikroben, Algen, Pilze und deren Abbauprodukte und Derivate, Proteaseninhibitoren, Alkylphosphocholine, radioaktive Isotope enthaltende Substanzen, Tenside, kardiovaskuläre Pharmazeutika, Chemotherapeutika, gastrointestinale Pharmazeutika und Neuropharmazeutika umfasst.

Unter „Derivate von aliphatischen Di- oder Polycarbonsäuren“ werden insbesondere monofunktionelle Ester bei Dicarbonsäuren oder mono- oder difunktionelle Ester bei Polycarbonsäuren verstanden, die C₁-C₁₈-Alkylteile, vorzugsweise C₁-C₄-Alkylteile enthalten.

Die Herstellung der superparamagnetischen Teilchen erfolgt in bekannter Weise durch eine Fällung aus einer Eisensalzlösung mit z.B. Ammoniakwasser und einer nachfolgenden gezielten Agglomeration der entstandenen superparamagnetischen Eindomänenteilchen. Dabei werden die superparamagnetischen Eindomänenteilchen in Wasser verrührt und bei einem pH-Wert von 1 bis 7 durch Erhitzen auf 80 bis 120°C, bei Temperaturen über 100°C im Autoklaven, zur Aggregation gebracht. Nach dem Abkühlen der Dispersion werden die Teilchen so lange gewaschen, bis die elektrische Leitfähigkeit des Filtrates kleiner als 10 µS/cm beträgt. Die so hergestellten superparamagnetischen Teilchen bilden sofort einen schnell sedimentierenden Niederschlag, der sich auch durch starkes Rühren oder durch Ultraschallbehandlung nicht in eine stabile Dispersion überführen läßt. Erst die Bindung von Stabilisatorsubstanzen auf der Oberfläche der superparamagnetischen Teilchen sorgt für eine Dispergierbarkeit. Bei Citronensäure als Stabilisatorsubstanz reicht Rühren mit dem Glasstab, bei anderen Stabilisatorsubstanzen benötigt man einen stärkeren Energieeintrag, wie z.B. Erwärmen oder Einwirkung von Ultraschall, um stabile Dispersionen zu erhalten. Nach der Stabilisierung der superparamagnetischen Teilchen mit einer aliphatischen Di- oder Polycarbonsäure, z.B. mit Citronensäure, wird die Dispersion mit Basen, wie Natronlauge,

Methylglucamin, auf einen pH-Wert von 7,0 eingestellt und gegen Wasser oder physiologische Kochsalzlösung dialysiert, um den überschüssigen Anteil an Elektrolyt zu entfernen.

- 5 Erfindungsgemäß erfolgt nun die Mischung der Dispersion der superparamagnetischen Teilchen, die einen Eisengehalt im Bereich von 0,001 Mol Fe/l bis 10 Mol Fe/l besitzen kann, und die in Wasser oder einem niedrigsiedenden organischen polaren Lösungsmittel dispergiert sein kann, mit einer wäßrigen Lösung von Ionen chemischer Elemente. Der anzuwendende Konzentrationsbereich der Lösungen der Ionen chemischer Elemente liegt im
- 10 Bereich von 0,001 mmolar bis 1 molar. Das Mengenverhältnis von Ionen chemischer Elemente zu Eisen soll in der Mischung 10 Mol-% nicht überschreiten.

- Es ist vorteilhaft, verdünnte Lösungen einzusetzen, z.B. zwischen 0,001 und 0,1 molare Lösungen, und diese langsam zuzusetzen, z.B. tropfenweise, um einen örtlichen großen
- 15 Konzentrationsgradienten zu vermeiden.

- Die Ionen chemischer Elemente, wie die positiv geladenen Metallionen der chemischen Elemente Kupfer, Silber, Gold, Eisen, Nickel, Kobalt, Gallium, Thallium, Bismut, Palladium, Rhenium, Rhodium, Ruthenium, Platin, Technetium, Indium, Iridium, Osmium, Radium,
- 20 Selen, Vanadium, Yttrium, Zirkon, und seltene Erden, sowie Gemische davon, oder auch radioaktive Isotope dieser Metallionen, wie ^{52}Fe , ^{67}Ga , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{113}In , ^{188}Rh , ^{192}Ir , ^{198}Au , ^{201}Tl oder ^{223}Ra , werden vor der Mischung mit den superparamagnetischen Teilchen in Wasser oder einem niedrigsiedenden organischen polaren Lösungsmittel, vorzugsweise in Wasser gelöst.

- 25 Die negativ geladenen Ionen chemischer Elemente, wie die radioaktiven Isotope ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{123}I , werden vor der Mischung mit den superparamagnetischen Teilchen in einer wäßrigen Polyethylenimin-Lösung gelöst. Der anzuwendende Konzentrationsbereich der Polyethylenimin-Lösung liegt im Bereich von 0,001 bis 1 molar und der anzuwendende
- 30 Konzentrationsbereich der Lösungen der negativ geladenen Ionen chemischer Elemente liegt im Bereich von 0,001 mmolar bis 1 mmolar.

- Die Mischung der geladenen Ionen chemischer Elemente mit den superparamagnetischen Teilchen erfolgt unter Rühren, wobei es wichtig ist, daß die wäßrige Dispersion der
- 35 superparamagnetischen Teilchen vorgelegt und die wäßrige Lösung von Ionen chemischer Elemente allmählich, z.B. tropfenweise zugegeben wird. Die Mischung erfolgt in einem Temperaturbereich von 5°C bis 70 °C, bevorzugt bei Raumtemperatur, d.h. bei 20-25 °C.

Die stabilisierte superparamagnetische Teilchendispersion enthält nicht oder nur schwach aggregierte superparamagnetische Eindomänenteilchen. Diese bilden eine stabile magnetische Flüssigkeit, die sich leicht von den größeren superparamagnetischen
5 Aggregaten durch deren Sedimentation in einem Magnetfeld entsprechender Stärke und Inhomogenität abtrennen läßt.

In einer einfachen Ausführung der magnetischen Separation stellt man ein Becherglas mit der magnetischen Dispersion auf einen Permanentmagneten mit einer magnetischen Flußdichte
10 von 0,1 T und gießt nach einer Sedimentationszeit von ca. 30 min die überstehende magnetische Flüssigkeit ab. In dem Sediment zurück bleiben die superparamagnetischen Aggregate, die, je nach Teilchengröße, sich wieder spontan in der Dispersion verteilen oder als Bodensatz im Becherglas zurückbleiben. Bis zu Teilchengrößen von ungefähr 500 nm verteilen sich die superparamagnetischen Aggregate wieder spontan oder unter leichtem
15 Rühren im wäßrigen Dispersionsmittel.

Für das erfindungsgemäße Verfahren wurde gefunden, daß Polyethylenimine auf der z.B. mit Citronensäure stabilisierten Oberfläche der superparamagnetischen Teilchen stabile Bindungen eingehen, die die Sedimentationsstabilität der superparamagnetischen
20 Eindomänenteilchen und superparamagnetischen Aggregate in bestimmten Konzentrationsbereichen nicht beeinflussen. Mit diesen Polyethylenimin beschichteten Magnetteilchen lassen sich auch radioaktive Nichtmetallionen auf der Oberfläche der superparamagnetischen Teilchen binden. An die freien Amingruppen der Polyaminverbindungen können dann die o.g. kurzlebigen Radiopharmaka, wie ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F ,
25 ^{123}J , gebunden werden.

Ebenso wurde gefunden, daß Polyethylenimin auf den z.B. mit Citronensäure stabilisierten Oberflächen der superparamagnetischen Teilchen auch dann stabile Bindungen eingehen, die die Sedimentationsstabilität der superparamagnetischen Eindomänenteilchen und
30 superparamagnetischen Aggregate in bestimmten Konzentrationsbereichen nicht beeinflussen, wenn die Polyethylenimine vorher mit den kurzlebigen Radiopharmaka, wie ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{123}J , gemischt und erst dann auf der Oberflächen der superparamagnetischen Teilchen gebunden werden.

35 Die Verwendung der stabilisierten superparamagnetischen Teilchen kann erfolgen als Bakteriostaticum, Radiopharmakon, zur Tumorschädigung, zur Verhinderung von Restenosen, zur Bekämpfung von Entzündungskrankheiten, zur Funktionskontrolle von

Organen, zum magnetischen drug targeting, als MR-Kontrastmittel, als magnetische Ionenaustauscher und magnetische Adsorbentien für Separationsverfahren, als Magnetteilchen für die in vitro Diagnostik, gegebenenfalls unter Einwirkung von Magnetfeldern.

5

Die erfindungsgemäßen ionenhaltigen, vorzugsweise metallionenhaltigen superparamagnetische Teilchen können z. B. als Bakteriostatikum verwendet werden. So wirken superparamagnetische Teilchen, auf deren Oberfläche Silberionen gebunden wurden, stark bakterizid. Silberhaltige Eindomänenteilchen oder deren Aggregate können somit als

10 Therapeutikum z. B. bei entzündlichen Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes eingesetzt werden. Die silberhaltigen superparamagnetischen Teilchen werden am bakteriellen Entzündungsherd adsorbiert, die bakterielle Sauerstoffversorgung wird durch die Wirkung der geringen Silberionenkonzentration unterbunden, die Bakterien werden abgetötet.

15 Silberhaltige superparamagnetische Eindomänenteilchen und Aggregate, wie nach Beispiel 3 können, wie Untersuchungen an Ratten gezeigt haben, als orales Therapeutikum bei der Behandlung entzündlicher Magen-Darm-Erkrankungen Anwendung finden, wie Erkrankungen durch die Bakterienart *Helicobacter pylori*.

20 Sehr kleine silberhaltige superparamagnetische Eindomänenteilchen, wie nach Beispiel 4 können, wie Untersuchungen an Ratten gezeigt haben, auch als parenterales Therapeutikum bei bakteriellen Entzündungsprozessen im Körper Anwendung finden. Die Toxizität der Probe war mit einer LD 50 von 3 mmol Eisen/kg Körpergewicht für therapeutische Anwendungen geeignet. Bei Verringerung der Silberionenkonzentration ist mit einer Verringerung der

25 Toxizität zu rechnen.

Ein Vorteil dieser stark bakteriziden, silberhaltigen Eindomänenteilchen oder deren Aggregate ist, daß mit Hilfe der Kernspin-Tomographie der Adsorptionsort und die adsorbierte Menge der Magnetteilchen diagnostizierbar sind.

30

Radioaktive superparamagnetischen Teilchen können zur Herstellung eines parenteralen Radiopharmakons dienen, das sowohl zur Diagnose und Therapie von vulnerablen Plaques als auch zur Diagnose und Therapie der Restenose nach Ballondilatation oder Stentimplantation anwendbar ist. Durch den T1- und T2-Effekt der sehr kleinen

35 superparamagnetischen Eindomänenteilchen im Sinne der EP 0888545 B1 (vergrößerte R_1 -Relaxivität im Bereich von 2 bis 50 und ein Verhältnis der Relaxivitäten R_2/R_1 kleiner 5), der hier ebenfalls zu verzeichnen ist, ist die Untersuchung der Anreicherung der Teilchen in den

- Gefäßwänden mit Hilfe der Kernspin-Tomographie möglich. Die therapeutische Wirkung der radioaktiven superparamagnetischen Teilchen zur Diagnose und Therapie von vulnerablen Plaques und zur Verhinderung von Restenosen nach Ballondilatation oder Stentimplantation liegt in der Zerstörung der für das wieder wachsen verantwortliche Zellen in den Plaques an den Gefäßwänden. So wird das parenterale Radiopharmakon nach der Entfernung der Plaques und nach der Ballondilatation oder Stentimplantation direkt durch eine Kanüle in den untersuchten Gefäßbereich gespritzt, um so, durch die Zerstörung der für die Plaquebildung verantwortlichen Gefäßzellen, die Restenose zu verhindern.
- 10 Radioaktive superparamagnetischen Teilchen mit gewebespezifischen Antikörpern können als Radiopharmakon zur Bekämpfung spezifischer Tumorarten eingesetzt werden, da nach parenteraler Injektion der Teilchen die gewebespezifischen Antikörper an den entsprechenden Rezeptoren der Tumorzellen andocken und die radioaktiven Bestandteile der Magnetteilchen die Tumorzellen zerstören.
- 15 Eine Diagnose und Therapie von Glioblastomen mit radioaktiv citratbeschichteten kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen wird dadurch möglich.
- 20 Die superparamagnetischen Teilchen können auch zur in vitro Diagnostik oder als magnetische Ionenaustauscher und magnetische Adsorbentien zur Abtrennung von Ionen, organischen Molekülen, Makromolekülen, Zellen, Viren u.s.w. in der Biotechnologie, Abwasserreinigung oder sonstigen Stofftrennungungsverfahren verwendet werden, wenn auf der Oberfläche der Teilchen die entsprechenden Ionenaustauschergruppen und Adsorbentien gebunden werden. Metallionenhaltige superparamagnetische Teilchen können auch zur Herstellung von extrem kleinen Metallteilchen Verwendung finden, indem die Eisenoxidteilchen in Gegenwart reduzierend wirkender Substanzen durch verdünnte Säuren aufgelöst werden. Die Herstellung von Katalysatoren mit großen Oberflächen ist ebenfalls möglich.
- 25
- 30 An Beispielen sollen Herstellung und Eigenschaften der erfindungsgemäßen superparamagnetischen Teilchen erläutert werden
- Beispiel 1:
- 35 Eisen (III)-chlorid (270 g) und Eisen(II)-sulfat (153 g) werden in 1 l dest. Wasser gelöst. Durch Zugabe von Natronlauge wird unter Rühren ein pH-Wert von 9,5 eingestellt. Nach erfolgter Fällung wird die Dispersion unter Rühren mit Salzsäure auf den pH-Wert von 5,0 eingestellt und auf 100°C erwärmt. Nach dem Abkühlen der Dispersion wird der Niederschlag gewa-

schen, bis das Filtrat eine elektrische Leitfähigkeit von $< 10 \mu\text{S/cm}$ besitzt. Die Stabilisierung der superparamagnetischen Teilchen erfolgt durch Mischen der Teilchen mit einer wäßrigen Lösung von 120 g Citronensäure bei Raumtemperatur. Die Dispersion wird durch Zugabe von Natronlauge auf einen pH-Wert von 7,0 eingestellt und die nicht gebundenen Salze mit dest. Wasser dialysiert, bis das Dialysat eine elektrische Leitfähigkeit von $< 10 \mu\text{S/cm}$ besitzt. Zur Entfernung größerer oder schwach aggregierter superparamagnetischer Teilchen wird die Dispersion 10 min bei 10.000 U/min zentrifugiert und das Zentrifugat durch Ultrafiltration mit einem 40kD-Filter auf einen Eisengehalt von ca. 2 Mol/l aufkonzentriert.

10 Die superparamagnetischen Eindomänenteilchen haben einen mittleren Teilchendurchmesser von ca. 16 nm. Im Bodensatz der Zentrifuge befinden sich die superparamagnetischen Teilchenaggregate, die einen mittleren Teilchendurchmesser von ca. 100 nm haben.

Typische Analysendaten der sehr kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen sind:

15	Teilchendurchmesser d50	8 nm
	Gesamtdurchmesser	
	mit Stabilisator:	16 nm
	Eisen(II)-Gehalt	16 %
	T1-Relaxivität	12 l/mmol s
20	T2-Relaxivität	25 l/mmol s
	Verhältnis der Relaxivitäten R2/R1	2,05

Beispiel 2:

Eisen(III)-chlorid (270 g) und Eisen(II)-chlorid(119 g) werden in 1 l dest. Wasser gelöst. Durch Zugabe von Ammoniakwasser wird unter Rühren der pH-Wert der Lösung auf 9,6 eingestellt. Nach erfolgter Fällung wird die Dispersion 10 Minuten gerührt, mit einer Lösung von 120 g Citronensäure in 500 ml Wasser versetzt und 10 min gerührt. Nach dem Abkühlen der Dispersion wird der Niederschlag gewaschen, bis das Filtrat eine elektrische Leitfähigkeit von $< 10 \mu\text{S/cm}$ besitzt. Der Feststoff wird in 300 ml Wasser Verrührt und 10 min mit Ultraschall von 100 W Leistung dispergiert. Die entstehende Dispersion wird 30 min auf einen Permanentmagneten mit einer magnetischen Flußdichte von 0,1 T sedimentiert und der Überstand von magnetischer Flüssigkeit abgegossen. Der Überstand enthält überwiegend stabilisierte superparamagnetische Eindomänenteilchen. Das Sediment auf dem Permanentmagneten enthält die superparamagnetischen abbaubaren Aggregate. Die Dispersion auf einen pH-Wert von 7,0 eingestellt und die nicht gebundenen Salze mit einer physiologischen Kochsalzlösung, bis das Dialysat einen Ammoniumionengehalt von $< 0,001\text{g/l}$ besitzt. Zur Entfernung größerer oder schwach aggregierter superparamagnetischer Teilchen wird die Dispersion 10

min bei 10.000 U/min zentrifugiert und das Zentrifugat durch Ultrafiltration mit einem 40kD-Filter auf einen Eisengehalt von ca. 2 Mol/l aufkonzentriert.

Die superparamagnetischen Eindomänenteilchen haben einen mittleren

- 5 Teilchendurchmesser von ca. 14 nm. Im Bodensatz der Zentrifuge befinden sich die superparamagnetischen Teilchenaggregate, die einen mittleren Teilchendurchmesser von ca. 80 nm haben.

Typische Analysendaten der sehr kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen sind:

- | | |
|--|-------------|
| Teilchendurchmesser d50 | 4 nm |
| 10 Gesamtdurchmesser mit Stabilisator: | 8 nm |
| Eisen(II)-Gehalt | 14 % |
| T1-Relaxivität | 19 l/mmol s |
| T2-Relaxivität | 36 l/mmol s |
| 15 Verhältnis der Relaxivitäten R2/R1 | 1,89 |

Beispiel 3:

- Zu 20 ml der superparamagnetischen Aggregate von Beispiel 1, mit einem Eisengehalt von 2 Mol/l, werden tropfenweise 2 ml einer 0,1 molaren Silbernitrat-Lösung unter Rühren bei 25
- 20 °C beigemischt. Die überschüssige Elektrolytlösung wird durch Dialyse mit einem 40kD-Filter mit dest. Wasser dialysiert, bis das Dialysat eine elektrische Leitfähigkeit von < 10 µS/cm besitzt. Die entstehende Dispersion ist sedimentationsstabil und kann nach entsprechender pharmazeutischer Formulierung als Bakteriostatikum bei bakteriellen Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes verwendet werden. Die Adsorption der superparamagnetischen
- 25 Aggregate im Magen-Darm-Trakt kann mit Hilfe der Kernspin-Tomographie beobachtet werden.

Beispiel 4:

- Zu 20 ml der kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen von Beispiel 1, mit einem
- 30 Eisengehalt von 2 Mol/l, werden tropfenweise 2 ml einer 0,1 molaren Silbernitrat-Lösung unter Rühren bei 20 °C gegeben. Die überschüssige Elektrolytlösung wird durch Dialyse mit einem 40kD-Filter mit dest. Wasser dialysiert, bis das Dialysat eine elektrische Leitfähigkeit von < 10 µS/cm besitzt. Die entstehende Dispersion ist sedimentations- und magnetfeldstabil und kann zur Herstellung eines parenteralen Therapeutikums bei bakteriellen
- 35 Entzündungsprozessen im Körper Anwendung finden. Die Adsorption der superparamagnetischen Aggregate im Blutkreislauf kann mit Hilfe der Kernspin-Tomographie beobachtet werden.

Beispiel 5:

20 ml der kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen von Beispiel 2, mit einem Eisengehalt von 2 Mol/l, werden mit 2 ml einer radioaktiven Gallium-67-Citrat-Lösung mit einer Aktivität von 400 MBq (Mega Becquerel) und einer effektiven Dosis von 48 Sv (Sievert) versetzt. Die superparamagnetischen Eindomänenteilchen haben einen mittleren Teilchendurchmesser von ca. 14 nm. Die entstehende Dispersion ist sedimentations- und magnetfeldstabil und kann zur Herstellung eines parenteralen Radiopharmakons dienen, das zur Diagnose und Therapie von vulnerablen Plaques, sowie der Restenose nach Ballondilatation oder Stentimplantation eingesetzt werden kann. Durch den T1 und T2-Effekt der sehr kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen ist eine Anreicherung der Teilchen in den Gefäßwänden mit Hilfe der Kernspin-Tomographie möglich.

Eine Diagnose und Therapie von Glioblastomen mit diesen radioaktiv citratbeschichteten kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen ist ebenfalls möglich.

Beispiel 6:

20 ml der kleinen superparamagnetischen Aggregate von Beispiel 2, mit einem Eisengehalt von 2 Mol/l, werden mit 2 ml einer radioaktiven Gallium-67-Citrat-Lösung mit einer Aktivität von 400 MBq und einer effektiven Dosis von 48 Sv versetzt. Die superparamagnetischen Aggregate haben einen mittleren Teilchendurchmesser von ca. 80 nm. Die entstehende Dispersion ist sedimentationsstabil und kann zur Herstellung eines parenteralen Radiopharmakons dienen. Die superparamagnetischen Aggregate von Beispiel 2 sind für Diagnose und Therapie von malignen Lebertumoren im Sinne der lokoregionären Radiotherapie (Radioembolisation) anwendbar.

Beispiel 7:

20 ml der kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen von Beispiel 2, mit einem Eisengehalt von 1 Mol/l, werden mit 4 ml einer 0,1 millimolaren Pentaethylenhexamin-Lösung versetzt. Zu dieser Dispersion werden dann radioaktiven Jodid-123-Lösung mit einer Aktivität von 300 MBq und einer effektiven Dosis von 2,3 Sv gegeben. Die superparamagnetischen Eindomänenteilchen haben einen mittleren Teilchendurchmesser von ca. 14 nm. Die entstehende Dispersion ist sedimentations- und magnetfeldstabil und kann zur Herstellung eines parenteralen Radiopharmakons dienen.

Für die Kopplung von gewebespezifischen Bindungssubstanzen, wie Antikörper von CD 30-Rezeptoren von Hodgkin-Lymphomen oder Antikörper von GD2-Rezeptoren von Neuroblastomen, werden die freien Amingruppen des Pentaethylenhexamins verwendet.

Beispiel 8:

20 ml der kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen von Beispiel 2, mit einem Eisengehalt von 2 Mol/l, werden mit 2 ml einer 0,1 molaren Platin II-chlorid-Lösung unter Rühren bei 20 °C tropfenweise versetzt. Die überschüssige Elektrolytlösung wird durch
5 Dialyse mit einem 40 kD-Filter mit dest. Wasser dialysiert, bis das Dialysat eine elektrische Leitfähigkeit von $< 10 \mu\text{S/cm}$ besitzt. Die superparamagnetischen Eindomänenteilchen haben einen mittleren Teilchendurchmesser von ca. 10 nm. Die entstehende Dispersion ist sedimentations- und magnetfeldstabil und kann zur Herstellung eines platinhaltigen Katalysators dienen.

10

Beispiel 9:

20 ml der kleinen superparamagnetischen Eindomänenteilchen von Beispiel 2, mit einem Eisengehalt von 2 Mol/l, werden mit 1,5 ml einer Mischung von 1 ml 0,1 molaren Platin II-chlorid-Lösung und 0,5 ml 0,1 molaren Rhenium III-chlorid-Lösung unter Rühren bei 20 °C
15 tropfenweise versetzt. Die überschüssige Elektrolytlösung wird durch Dialyse mit einem 40 kD-Filter mit dest. Wasser dialysiert, bis das Dialysat eine elektrische Leitfähigkeit von $< 10 \mu\text{S/cm}$ besitzt. Die superparamagnetischen Eindomänenteilchen haben einen mittleren Teilchendurchmesser von ca. 10 nm. Die entstehende Dispersion ist sedimentations- und magnetfeldstabil und kann zur Herstellung eines platin-rhenium-haltigen Katalysators dienen.

20

Beispiel 10:

Die superparamagnetischen Eindomänenteilchen von Beispiel 8 werden mit 1 molarer Oxalsäurelösung versetzt und unter Erwärmen auf 70°C die Eisenoxidanteile gelöst. In der gelben Lösung befinden sich die sehr kleinen nanometergroßen Platinteilchen. Die
25 überschüssige Elektrolytlösung wird durch Dialyse mit einem 3 kD-Filter mit dest. Wasser dialysiert, bis das Dialysat eine elektrische Leitfähigkeit von $< 10 \mu\text{S/cm}$ besitzt. Die entstehende Dispersion von Platinteilchen ist sedimentations- und magnetfeldstabil und kann zur Herstellung eines platinhaltigen Katalysators dienen.

003061

Patentansprüche

5

1. Stabilisierte superparamagnetische Teilchen, bestehend aus superparamagnetischen Eindomänenteilchen aus Eisenhydroxid, Eisenoxidhydrat, Eisenoxid-, Eisenmischoxid- oder Eisen, die eine Teilchengröße im Bereich von 2 und 50 Nanometer haben, oder
10 Aggregaten davon, die eine Teilchengröße im Bereich von 10 bis 1000 Nanometer haben, oder Gemischen davon, jeweils stabilisiert auf ihrer Oberfläche durch aliphatische Di- oder Polycarbonsäuren oder Derivate davon, die eine Aggregation und Sedimentation im Schwerfeld verhindern, **dadurch gekennzeichnet, dass die superparamagnetischen Eindomänenteilchen auf ihrer Oberfläche geladene Ionen chemischer Elemente gebunden tragen.**

15

2. Teilchen nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass die Ionen positiv geladene Metallionen sind, die aus der Gruppe ausgewählt sind, die aus Ionen der chemischen Elemente Kupfer, Silber, Gold, Eisen, Nickel, Kobalt, Gallium, Thallium, Bismut, Palladium, Rhenium, Rhodium, Ruthenium, Platin, Technetium, Indium, Iridium, Osmium, Radium,**
20 **Selen, Vanadium, Yttrium, Zirkon, seltenen Erden, Gemischen davon und radioaktiven Isotopen dieser Elemente besteht.**

25

3. Teilchen nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet, dass die Metallionen aus der Gruppe der radioaktiven Isotope, bestehend aus ^{52}Fe , ^{67}Ga , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{113}In , ^{188}Rh , ^{192}Ir , ^{198}Au , ^{201}Tl und ^{223}Ra ausgewählt sind.**

30

4. Teilchen nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet, dass die positiv geladenen Metallionen aus der Gruppe ausgewählt sind, die aus Metallionen der chemischen Elemente Kupfer, Silber, Gold, Platin, Palladium, Osmium, Rhenium, Rhodium, Ruthenium, Vanadium und Gemischen davon besteht.**

35

5. Teilchen nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass die geladenen Ionen Nichtmetallionen sind, die über eine Polyethylenimin-Brücke an die Oberfläche der superparamagnetischen Eindomänenteilchen gebunden sind.**

6. Teilchen nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet, dass die geladenen Ionen solche der radioaktiven Isotope ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{123}I oder Gemische davon sind.**

7. Teilchen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die superparamagnetischen Eindomänenteilchen auf ihrer Oberfläche stabilisiert sind durch Äpfelsäure, Weinsäure, Citronensäure, Asparaginsäure oder Gemische davon.

5 8. Teilchen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die superparamagnetischen Eindomänenteilchen und die Teilchen der stabilen, abbaubaren Aggregate aus Eisenhydroxid, Eisenoxidhydrat, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, Fe_3O_4 , aus den Eisenmischoxiden der allgemeinen Formel $m\text{MO}\cdot n\text{Fe}_2\text{O}_3$, worin M die zweiwertigen Metallionen Fe, Co, Ni, Mn, Be, Mg, Ca, Ba, 10 Sr, Cu, Zn, Pt oder Gemische davon bedeuten, oder aus den Mischoxiden der allgemeinen Formel $m\text{Fe}_2\text{O}_3\cdot n\text{Me}_2\text{O}_3$, worin Me die dreiwertigen Metallionen Al, Cr, Bi, seltene Erdmetalle oder Gemische davon bedeuten, oder Eisen bestehen, wobei m und n ganze Zahlen im Bereich von 1 bis 6 sind.

15 9. Teilchen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die superparamagnetischen Eindomänenteilchen auf ihrer Oberfläche zusätzlich zu den stabilisierenden Carbonsäuren und den positiv geladenen Ionen chemischer Elemente eine gewebespezifische Bindungssubstanz oder eine pharmakologisch wirksame Substanz oder ein Gemisch davon aufweisen.

20 10. Teilchen nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die R_1 -Relaxivität der superparamagnetischen Eindomänenteilchen im Bereich von 2 bis 50 liegt und das Verhältnis der Relaxivitäten R_2/R_1 kleiner als 5 ist.

25 11. Verfahren zur Herstellung von stabilisierten superparamagnetischen Teilchen nach Anspruch 1 aus durch Carbonsäuren stabilisierten Eindomänenteilchen oder deren Aggregaten, dadurch gekennzeichnet, daß die stabilisierten superparamagnetischen Eindomänenteilchen und Aggregate oder Gemische davon mit Lösungen vermischt werden, die Ionen chemischer Elemente enthalten bei einer Konzentration der Lösungen im Bereich von 0,001 mil- 30 limolar bis 1 molar und einem Verhältnis von Ionen chemischer Elemente zu Eisen von <10 Mol-% bei einer Temperatur von 5 bis 70 °C und anschließend die Teilchendispersion von überschüssigen Ionen gereinigt wird.

35 12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß zur Herstellung von stabilisierten Teilchen mit Nichtmetallionen die Lösungen mit den Nichtmetallionen vor dem Vermischen mit den superparamagnetischen Teilchen mit einem Polyethylenimin in Kontakt ge-

bracht werden, oder die mit Polyethylenimin behandelten superparamagnetischen Teilchen mit Lösungen, die Nichtmetallionen enthalten, in Kontakt gebracht werden.

13. Pharmakologisch wirksame Zubereitung, bestehend aus einem pharmakologisch annehmbaren Träger und superparamagnetischen Eindomänenteilchen oder Aggregaten nach Anspruch 1, an die stabilisierende aliphatische Di- oder Polycarbonsäuren oder Derivate davon gebunden sind, die eine Aggregation und Sedimentation im Schwerfeld verhindern, und die auf ihrer Oberfläche zusätzlich positiv geladene Ionen chemischer Elemente gebunden tragen.

14. Zubereitung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Eindomänenteilchen der Aggregate zusätzlich zu der stabilisierenden Carbonsäure und den Metallionen eine gewebespezifische Bindungssubstanz oder eine pharmakologisch wirksame Substanz oder ein Gemisch davon angekoppelt an die stabilisierende(n) Carbonsäure(n) enthalten.

15. Verwendung der stabilisierten superparamagnetischen Teilchen nach Anspruch 1 als Bakteriostaticum, Radiopharmakon, zur Tumorschädigung, zur Verhinderung von Restenosen, zur Bekämpfung von Entzündungskrankheiten, zur Funktionskontrolle von Organen, zum magnetischen drug targeting, als MR-Kontrastmittel, als magnetische Ionenaustauscher und magnetische Adsorbentien für Separationsverfahren, zur Herstellung von extrem kleinen Metallteilchen, als Magnetteilchen für die in vitro Diagnostik, gegebenenfalls unter Einwirkung von Magnetfeldern.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/DE 02/03862

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 H01F1/00 H01F1/44

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 H01F B03C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, INSPEC

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 888 545 B (PILGRIMM HERBERT) 23 January 2002 (2002-01-23) cited in the application claims paragraphs '0029!, '0031!, '0032!	1,5,7-15
A	DE 44 27 821 A (PILGRIMM HERBERT ; SILICA GEL GMBH ADSORPTIONS TE (DE)) 1 February 1996 (1996-02-01) claims 1,3,6-11 column 2, line 16-20	1,2,8,9, 11,13,15
A	US 5 928 958 A (PILGRIMM HERBERT) 27 July 1999 (1999-07-27) cited in the application claims column 4, line 37 - line 59 column 3, line 29,30,52	1-3,5,6, 8,9,11, 13,14

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 June 2003

Date of mailing of the international search report

16/06/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stichauer, L

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 02/03862

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0888545	B	07-01-1999	DE 19612001 A1	25-09-1997
			AT 212442 T	15-02-2002
			DE 59706186 D1	14-03-2002
			EP 0888545 A1	07-01-1999
			JP 2000507197 T	13-06-2000
			WO 9735200 A1	25-09-1997
			ES 2171930 T3	16-09-2002
DE 4427821	A	01-02-1996	DE 4309333 A1	22-09-1994
			DE 4427821 A1	01-02-1996
			AT 191086 T	15-04-2000
			WO 9603653 A1	08-02-1996
			DE 59508069 D1	27-04-2000
			EP 0772776 A1	14-05-1997
			JP 10503281 T	24-03-1998
			US 6274121 B1	14-08-2001
			US 5928958 A	27-07-1999
			AT 156706 T	15-08-1997
			DE 4407338 A1	07-09-1995
			WO 9421240 A2	29-09-1994
			DE 59403734 D1	18-09-1997
			EP 0689430 A1	03-01-1996
			JP 8508721 T	17-09-1996
			US 5916539 A	29-06-1999
US 5928958	A	27-07-1999	DE 4427821 A1	01-02-1996
			AT 191086 T	15-04-2000
			WO 9603653 A1	08-02-1996
			DE 59508069 D1	27-04-2000
			EP 0772776 A1	14-05-1997
			JP 10503281 T	24-03-1998
			US 6274121 B1	14-08-2001

INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 02/03862

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 H01F1/00 H01F1/44

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 H01F B03C

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, INSPEC

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 0 888 545 B (PILGRIMM HERBERT) 23. Januar 2002 (2002-01-23) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche Absätze '0029!, '0031!, '0032!	1,5,7-15
A	DE 44 27 821 A (PILGRIMM HERBERT ;SILICA GEL GMBH ADSORPTIONS TE (DE)) 1. Februar 1996 (1996-02-01) Ansprüche 1,3,6-11 Spalte 2, Zeile 16-20	1,2,8,9, 11,13,15
A	US 5 928 958 A (PILGRIMM HERBERT) 27. Juli 1999 (1999-07-27) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche Spalte 4, Zeile 37 - Zeile 59 Spalte 3, Zeile 29,30,52	1-3,5,6, 8,9,11, 13,14



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

5. Juni 2003

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

16/06/2003

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Stichauer, L

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung und zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 02/03862

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0888545	B	07-01-1999	DE 19612001 A1 25-09-1997
			AT 212442 T 15-02-2002
			DE 59706186 D1 14-03-2002
			EP 0888545 A1 07-01-1999
			JP 2000507197 T 13-06-2000
			WO 9735200 A1 25-09-1997
			ES 2171930 T3 16-09-2002
DE 4427821	A	01-02-1996	DE 4309333 A1 22-09-1994
			DE 4427821 A1 01-02-1996
			AT 191086 T 15-04-2000
			WO 9603653 A1 08-02-1996
			DE 59508069 D1 27-04-2000
			EP 0772776 A1 14-05-1997
			JP 10503281 T 24-03-1998
			US 6274121 B1 14-08-2001
			US 5928958 A 27-07-1999
			AT 156706 T 15-08-1997
			DE 4407338 A1 07-09-1995
			WO 9421240 A2 29-09-1994
			DE 59403734 D1 18-09-1997
			EP 0689430 A1 03-01-1996
			JP 8508721 T 17-09-1996
			US 5916539 A 29-06-1999
US 5928958	A	27-07-1999	DE 4427821 A1 01-02-1996
			AT 191086 T 15-04-2000
			WO 9603653 A1 08-02-1996
			DE 59508069 D1 27-04-2000
			EP 0772776 A1 14-05-1997
			JP 10503281 T 24-03-1998
			US 6274121 B1 14-08-2001

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.